

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Чуриловой Анны Викторовны на тему «Исследование влияния различных режимов гипобарической гипоксии на экспрессию транскрипционных факторов и про-адаптивных белков в мозге крысы», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13. – «Физиология»

Диссертационная работа А.В. Чуриловой посвящена изучению важной проблемы нейробиологии и медицины – поиску средств для повышения толерантности мозга к действию повреждающих факторов, снижения риска развития нейродегенеративных заболеваний и продления активной умственной деятельности человека. Одним из повреждающих факторов, с которым организм человека и животных встречается довольно часто на протяжении жизнедеятельности, является гипоксия. Она может развиваться как вследствие снижения содержания кислорода в атмосфере, так и в результате развития патологий, затрудняющих доступ кислорода к органам и тканям. В последние годы роль гипоксии и ишемии в развитии нейродегенерации и различных патологий нервной системы, включая болезнь Альцгеймера, является предметом интенсивных исследований. Однако, несмотря на значительное число работ в данной области, все еще нет четкой картины причинно-следственных связей между уровнем снабжения мозга кислородом и развитием патологий мозга, а также доступных в клинике адекватных методов повышения резистентности мозга к гипоксии. В связи с этим исследование А.В. Чуриловой является важным и актуальным.

Исходя из текста автореферата данной диссертационной работы, автор глубоко понимает сущность исследуемой ею проблемы, хорошо знакома с современной литературой в данной области и четко формулирует цели и задачи исследования, связанные с анализом влияния разных доз умеренной гипобарической гипоксии (так называемого гипоксического прекондиционирования) на способность клеток мозга выдерживать действие последующей тяжелой гипоксии, а также на уровень экспрессии ряда транскрипционных факторов и регулируемых ими белков-мишеней. С этой целью автором проведено детальное исследование анализа повреждения нейронов после тяжелой гипоксии и влияние на выраженность этих изменений как однократного, так и трехкратного гипоксического прекондиционирования. Для выяснения молекулярных механизмов, вовлеченных в ответ нервных клеток на тяжелую гипоксию и прекондиционирование, автором выполнен анализ экспрессии активационных транскрипционных факторов pCREB и NF- κ B, а также глюко- и минералокортикоидных рецепторов – представителей семейства лиганд-зависимых

транскрипционных факторов, в коре и различных отделах гиппокампа крыс на трех сроках после действия тяжелой гипоксии (через 3 часа, 24 часа и 3 суток) как без, так и после одного или трех сеансов прекондиционирования. Более того, для каждой из экспериментальной парадигм автором исследован уровень экспрессии про-адаптивных белков BDNF и Vcl-2, принимающими участие в регуляции выживаемости нейронов. Автором также проведен анализ эффектов самого прекондиционирования (одного или трех сеансов) без последующей тяжелой гипоксии на экспрессию этих белков. Используемые автором методы разнообразны и адекватны поставленным в работе задачам, а достоверность полученных данных подтверждена с помощью применения адекватного статистического анализа. В результате проведенного исследования автором получены новые приоритетные данные и выявлен ряд важных закономерностей, которые имеют как фундаментальное научное значение, так и практическую ценность. Автором обнаружено, что у выживших животных тяжелая гипобарическая гипоксия приводит к существенным повреждениям нейронов неокортекса и гиппокампа, выявляемых через 3-7 суток после воздействия, и что трехкратное прекондиционирование не только существенно снижает процент гибели животных, но также предотвращает нарушения в нервных клетках. При этом только один сеанс прекондиционирования оказывается не эффективным. На молекулярном уровне автором обнаружено подавление экспрессии pCREB в неокортексе после тяжелой гипоксии, и существенное повышение его экспрессии на ранних сроках (3-24 часа) после 3-х сеансов прекондиционирования (но не после одного сеанса). С другой стороны, в гиппокампе прекондиционированных животных наблюдалось повышение экспрессии другого транскрипционного фактора - NF-kappaB, что говорит о существенном вкладе данных транскрипционных факторов в развитие толерантности мозга и выживаемость нейронов. На уровне минерало- и глюкокортикоидных рецепторов после тяжелой гипоксии и одного сеанса прекондиционирования наблюдались разнонаправленные изменения их экспрессии, в то время как три сеанса прекондиционирования приводили к умеренной активации обоих типов рецепторов в неокортексе и препятствовали подавлению экспрессии минералокортикоидных рецепторов в после CA1 гиппокампа. Это свидетельствует об участии данных рецепторов в развитии ответа на гипоксию в клетках коры и гиппокампа после 3-х эпизодов прекондиционирования и тяжелой гипоксии. На уровне про-адаптивных белков тяжелая гипоксия без или только с одним сеансом прекондиционирования приводила к снижению уровня BDNF и Vcl-2, в то время как после 3-х сеансов прекондиционирования и тяжелой гипоксии наблюдалось повышение их экспрессии как в неокортексе, так и в гиппокампе. Поскольку эти факторы играют важную нейропротекторную роль,

повышение их экспрессии после 3-х сеансов прекондиционирования является важным условием для выживания клеток и предотвращения клеточной гибели. Данный вывод имеет несомненное практическое значение, поскольку позволяет рассматривать применение 3-х-кратного мягкого гипоксического воздействия как инструмент для повышения резистентности нервных клеток в ответ на гипоксию, ишемию или другие неблагоприятные воздействия. Дальнейшее изучение молекулярных механизмов гипоксического прекондиционирования и способов его применения является чрезвычайно важным, поскольку позволит глубже понять его роль в эпигенетической регуляции нейрональных генов, а также привести к созданию щадящих немедикаментозных методов предотвращения или коррекции поражений нервной системы.

Автореферат, в целом, написан хорошим, четким языком, однако после его прочтения у автора рецензии возник ряд вопросов, которые ни в коей мере не снижают научную ценность данной работы:

1. В тексте автореферата не указано, какое содержание кислорода соответствовало давлению 180 и 360 мм рт.ст. в барокамере. Поскольку работа посвящена изучению эффектов гипоксии, эта информация представляется важной. Возможно ли, что изменение давления также вносит свой вклад в развитие патологической реакции мозга? Имеются ли у автора или в литературе данные о действии только снижения содержания кислорода (без изменения давления) на реакцию нейронов мозга?

2. В тексте термины тяжелая гипоксия, прекондиционирование, минерало- и глюкокортикоидные рецепторы, а также их сокращения используются непоследовательно. В ряде случаев употребление их в одном предложении может вести к искажению смысла. Например, в пункте 2 целей и задач исследования из последнего предложения можно сделать вывод, что прекондиционирование проводилось после тяжелой гипоксии.

3. С практической точки зрения также интересно узнать, насколько долго сохраняется защитный эффект гипоксического прекондиционирования.

В целом, сам автореферат, описанные в нем методические подходы и полученные результаты, а также научные публикации автора позволяют сделать вывод о том, что данная диссертация является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным самостоятельно на высоком научном уровне. Полученные автором результаты достоверны, а выводы и заключения хорошо обоснованы. Результаты работы в достаточном объеме опубликованы в изданиях отечественной и зарубежной печати, а также опробированы на различных научных форумах.

В заключение можно с уверенностью констатировать, что данная диссертационная работа и автореферат отвечают всем требованиям ВАК Министерства образования и

науки Российской Федерации, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Чурилова Анна Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13. – «Физиология».

Ведущий научный сотрудник
лаборатории сравнительной физиологии и патологии ц.н.с.
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук, пр. Тореза 44, Санкт-Петербург, 194223
Телефон: 812-5523166
E-mail: nnalivaeva@hotmail.com

д.б.н. Н.Н.Наливаева

12 февраля 2015

Наливаева



Ведущий научный сотрудник
лаборатории сравнительной физиологии
и патологии ц.н.с.
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института эволюционной
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук

Наливаевой Н.Н.
12.02.2015
Исход